

## 神経幹前駆細胞の接着培養に用いるナイロン網目を用いた培養基材の開発

(阪府大院理) ○原 正之・森 英樹

Nylon Mesh Scaffolds for The Adherent Culture of Neural Stem/Progenitor Cells (*Graduate School of Science, Osaka Prefecture University*) ○Masayuki Hara, Hideki Mori

Neural stem/progenitor cells (NSPCs) can be amplified by suspension culture of spherical cell clusters called neurosphere. NSPCs are useful stem cells in regenerative medicine because they can give rise to both neurons and glial cells. Suitable scaffolds for adherent culture of NSPCs have been searched.

We prepared polyacrylic acid-grafted nylon mesh (PAA-NM) by graft polymerization method using gamma-irradiation. Matrigel, which is a mixture of extracellular matrix in basal lamina, was covalently immobilized to prepare the Matrigel-immobilized PAA-grafted nylon mesh (M-PAA-NM) using 1-ethyl-3-(3-dimethylamino propyl) carbodiimide (EDC) and N-hydroxysuccinimide (NHS), as cross-linking reagents.

Cell adhesion property of NSPCs between the NM, PAA-NM, and M-PAA-NM was different from each other. The neurosphere-like clusters of NSPCs were weakly bound to NM and PAA-NM without spreading. The NSPCs were firmly adhered to, spread, and covered the surface of M-PAA-NM. We evaluated the state of differentiation by qRT-PCR and immunocytochemistry. NSPCs were not differentiated on the M-PAA-NM. We concluded that the M-PAA-NM scaffold efficiently enables the adherent culture of immature NSPCs.

**Keywords :** Nylon; Polyacrylic acid; Graft polymerization; Matrigel; Neural stem cell; Scaffold

神経幹/前駆細胞は、ニューロスフィアと呼ばれる球状細胞集塊の懸濁培養で増やすことが可能である。神経細胞とグリア細胞に分化できるので、再生医療に有用な細胞である。この細胞の培養に適した接着培養基材が求められてきた。

我々はナイロン網目 (NM) の表面に、ポリアクリル酸をガンマ線グラフト重合し (PAA-NM)、さらに、基底膜細胞外マトリクス成分混合物のマトリゲル(Matrigel)を、EDC/NHS 架橋試薬を用いて共有結合固定化した(M-PAA-NM)を作り、マウス神経幹前駆細胞 (NSPC) を培養して細胞接着性を調べた。

これらの基材間で細胞接着性が大きく異なり、NM と PAA-NM には neurosphere 状の細胞の球状集塊が接着したのに対して、M-PAA-NM の表面を細胞が覆って接着し、増殖した。細胞分化マーカーの遺伝子発現を定量的 RT-PCR と免疫組織化学的手法により調べると未分化な状態を維持していた。M-PAA-NM は NSPC の接着培養に適した基材であると結論した。

1) Nylon mesh-based 3D scaffolds for the adherent culture of neural stem/progenitor cells. H. Mori, R. Naka, M. Fujita, M. Hara, *J. Biosci. Bioeng.* **2021**, 113(4), 442-452.